

# 動物由來의 Citrate利用大腸菌 變異株에 관하여

李 憲 俊

忠南大學校 農科大學

崔 源 弼

慶北大學校 農科大學

## 緒 論

大腸菌의 同定을 위한 生化學的 檢査에 있어 citrate 利用性 檢査는 매우 중요하며 大腸菌은 citrate 를 利用 하지 않는다는 것이 根幹이 되어져 왔다.<sup>2,11,12)</sup>

한편 citrate利用(Cit<sup>+</sup>)大腸菌變異株는 Edward 및 Ewing<sup>1)</sup>이 0.6%~0.9%, Washington 및 Timm<sup>20)</sup>이 3株의 分離를 報告하여 지극히 낮은 分布로 알려져 왔으며, 또한 이들은 모두 人由來이며 動物由來는 最近 Ishiguro 등<sup>8)</sup>이 動物由來 Cit<sup>+</sup>大腸菌變異株의 높은 分離率을 報告하였으며, 이들 變異株의 citrate利用性이 plasmid에 의해 傳達되어진다는 것이 밝혀짐<sup>1,6,7,9,11)</sup>에 따라 1次 生化學的 檢査에서 citrate利用性이 있는 菌株을 大腸菌에서 제외시켜온 研究者들의 비당한 관심을 모으게 되었다. 그뿐만 아니라 H<sub>2</sub>S產生 大腸菌變異株,<sup>3,13,16)</sup> urease產生 大腸菌變異株<sup>19)</sup>와 함께 Cit<sup>+</sup>大腸菌變異株로 고려하지 않을 경우, 腸內細菌의 同定에 상당한 혼란을 가져올 것으로 우려하고 있으며, Sato 등<sup>17)</sup>에 의해 실시된 Cit<sup>+</sup>大腸菌變異株에 대한 遺傳學的인 研究에서 이들 變異株의 傳達性이 급속히 전파될 가능성을 추측하고 있어서 Cit<sup>+</sup>大腸菌變異株의 分布狀況과 遺傳學的 關係에 대하여 더 많은 研究가 절실히 요구되고 있다.

따라서 본 실험은 輸入牛 및 우리 나라에서 사육되고 있는 乳牛, 韓牛, 鷄, 鳩, 野生哺乳類를 대상으로 하여 Cit<sup>+</sup>大腸菌變異株의 分離와 分離株에 대한 藥劑耐性檢査 및 citrate利用性 傳達試驗을 실시함으로써 우리나라에서의 이들 變異株의 分布狀況과 遺傳學的 性狀에 관하여 조사하였다.

## 材料 및 方法

**供試動物**: 牛는 호주로부터 輸入되어 검역 중에 있는 肉用牛 269頭, 大邱近郊 3個 牧場의 乳牛 100頭 그리고 1個 牧場의 韓牛 14頭, 도합 383頭이며, 豚은 大邱市 屠畜場에서 屠殺된 160頭, 鷄는 大邱市 屠鷄場에서 屠殺된 57首이며, 鳩는 大邱市의 1個 動物園의 54首, 野

生哺乳類는 前述된 動物園의 원숭이 9頭, 사슴 12頭, 사자 4頭 그리고 코끼리 2頭를 대상으로 하였다.

**材料의 採取**: 牛는 個別的 直腸內 糞이나 排泄直後의 新鮮한 糞을, 豚과 鷄는 屠殺直後의 直腸內 糞을, 野生哺乳類는 畜舍內의 新鮮한 糞을 滅균면봉으로 鳩는 cloacal swab로 採取하였다.

**Cit<sup>+</sup>大腸菌變異株의 分離**: 上記의 糞은 採取한 후 1~2시간 이내 MacConkey agar平板培地에서 37°C, 18시간 배양하여 乳糖을 분해하고 집락의 성상이 전형적인 大腸菌과 同一한 것을 임의로 3~8株를 鈎菌하여 순수배양한 것을 供試하였다. 이들 菌株는 Simmons citrate agar(SCA)平板培地에서 37°C, 4일간 배양하여 본 배지를 알카리화시키고, 집락을 형성하는 菌株를 Cit<sup>+</sup>菌株로 판정하였고, 또한 SCA斜面培地에서 재확인하였다. 아울러 Difco, Eiken, BBL의 3個社의 SCA를 사용하여 제품별 검사를 실시하였으며, 이후 매일 반복해서 citrate利用性 檢査를 실시하였다.

**分離된 Cit<sup>+</sup>大腸菌變異株의 生化學的 同定**: Cit<sup>+</sup>大腸菌變異株에 대한 1次 生化學的 檢査는 sulfide-indole motility medium, triple sugar iron agar, lysine iron agar 그리고 methyl-red, Voges-Proskauer medium을 사용하여 실시하였으며, 확인 동정은 Edward 및 Ewing<sup>1)</sup>의 방법에 따라 실시하였다.

**抗生物質에 대한 耐性檢査**: Steers 등<sup>18)</sup>의 寒天平板稀釋法에 의하였으며, 培地는 heart infusion agar를 사용하였다. 藥劑의 稀釋은 MacLowry 등<sup>14)</sup>의 방법에 준하였으며 사용된 藥劑는 SIGMA製의 9藥劑로서 chloramphenical(CP), tetracycline(TC), kanamycin(KM), cephaloridine(CR), aminobenzylpenicillin(AP), nalidixic acid(NA), streptomycin(SM), gentamicin(GM) 및 colistin(CL)을 사용하였다. 이중 CP, TC, KM, CR, AP, NA는 25μg/ml, SM, GM, CL은 12.5μg/ml가 최종농도가 되게 하여 사용하였다.

**Citrate利用性 傳達檢査**: Sato 등<sup>17)</sup>의 방법에 따라 供與菌은 분리된 Cit<sup>+</sup>大腸菌變異株를, 被傳達菌은 大腸菌 ML 1410 (NA resistant, methionine-requiring

F-derivative of K-12)을 사용하였다.

### 結 果

대상동물의糞으로부터 cit<sup>+</sup>大腸菌變異株의分離는 Table 1에서와 같이 총 681頭 由來 3,108株의大腸菌樣集落中 68個體에서 123株(3.96%)의 Cit<sup>+</sup>大腸菌變異株가分離되었으며,動物別로는牛 383頭 由來 1,989株의大腸菌樣集落中 65頭에서 120株(6%),豚 168頭 由來 638株中 3頭에서 3株(0.5%)의 Cit<sup>+</sup>大腸菌變異株가分離되었고,鷄,鳩,원숭이,사슴,사자 그리고 코끼리로 부터는分離되지 않았다.

牛群의 지역에 따른 Cit<sup>+</sup>大腸菌變異株의分離率은 Table 2에서와 같이 Tasmania에서 輸入된 156頭 由來 797

株中 55頭(35.3%)에서 108株(13.6%), New South Wales에서 輸入된 113頭 由來 339株中 5頭(4.4%)에서 5株(1.5%), 3個 乳牛牧場中 1個 牧場의 50頭 由來 371株中 3頭(6%)에서 5株(1.3%) 그리고 나머지 2個 牧場의 50頭 由來 358株로 부터는分離되지 않았으며, 1個 韓牛牧場의 14頭 由來 124株中 2頭(14.3%)에서 2株(1.6%)가分離되었다. 또한 Tasmania 牛群에서 Cit<sup>+</sup>大腸菌變異株가分離된 55頭中 31頭(56.4%)는 1頭當 2株以上씩分離되었으며, 이 중 1頭로 부터는分離한 8株의大腸菌樣落中 6株가 Cit<sup>+</sup>大腸菌變異株이었다.

分離株에 대한 citrate利用性的安定성과 SCA製品別 檢査結果는 Table 2와 같이 乳牛로부터分離된 5株中 4株가, 韓牛로부터分離된 2株中 2株가分離 1개월

**Table 1.** Isolation of Citrate-utilizing *Escherichia coli* from Cattle, Pigs, Chickens, Pigeons, Monkeys, Deer, Lions and Elephants

| Host     | Specimens examined  | No. of animals examined | No. of <i>E. coli</i> -like colonies tested | No. of isolates which utilized citrate (No. of Animals) | Per cent |
|----------|---------------------|-------------------------|---|---|----------|
| Cattle   | Rectal aeces        | 383                     | 1989  | 120(65)   | 6        |
| Pig      | Rectal faeces       | 160                     | 638   | 3(3)  | 0.5      |
| Chicken  | Intestinal contents | 57                      | 270   | 0   | 0        |
| Pigeon   | Cloacal swabs       | 54                      | 72  | 0   | 0        |
| Monkey   | Composite fecals    | 9                       | 56  | 0   | 0        |
| Deer     | Composite fecals    | 12                      | 53  | 0   | 0        |
| Lion     | Composite fecals    | 4                       | 19  | 0   | 0        |
| Elephant | Composite fecals    | 2                       | 11  | 0   | 0        |
| Total    |                     | 681                     | 3108  | 123(68)   | 3.96     |

**Table 2.** Isolation of Citrate-utilizing *Escherichia coli* from Cattle

| Cattle | No. of animals examined | No. of <i>E. coli</i> -like colonies | No. of Isolates which utilized citrate | Per cent | No. of isolates which lost CA* |
|--------|-------------------------|--------------------------------------|--|----------|--------------------------------|
| A      | 156                     | 797                                  | 108(55)                                | 13.6     | 2                              |
| B      | 113                     | 339                                  | 5(5)                                   | 1.5      |                                |
| C      | 50                      | 371                                  | 5(3)                                   | 1.3      | 4                              |
| D      | 28                      | 162                                  | 0                                      | 0        |                                |
| E      | 22                      | 196                                  | 0                                      | 0        |                                |
| F      | 14                      | 124                                  | 2(2)                                   | 1.6      | 2                              |
| Total  | 383                     | 1089                                 | 120(65)                                | 6        | 8                              |

A: Imported from Tasmania, Australia.

B: Imported from New South Wales, Australia.

C, D, E: Dairy farms in Korea.

F: Korean native cattle in Korea.

\*: CA, Citrate utilizing ability.

**Table 3.** Drug Resistance Patterns of Citrate-utilizing *Escherichia coli*

| Resistance patterns | No. of resistant strains | Per cent |
|---------------------|--------------------------|----------|
| CP-TC-SM            | 4(1)                     | 3.3      |
| AP-TC-SM            | 3                        | 2.4      |
| TC-SM               | 45                       | 36.6     |
| TC                  | 27                       | 21.9     |
| SM                  | 1                        | 0.8      |
| (s)                 | 43(2)                    | 35       |
|                     | 123(3)                   | 100      |

Abbreviations: CP, chloramphenicol;

TC, tetracycline; SM, streptomycin; AP, aminobenzylpenicillin.

(s), Susceptibility to antibiotics used in the present study.

Figures in parenthesis are the number of citrate-utilizing *Escherichia coli* from pigs.

후 재검사에서 citrate利用性を 消失하였고, Tasmania 牛群 由來 120株 中 2株는 2개월 후 재검사에서 citrate 利用性を 消失하여 모두 8株가 citrate利用性を 消失하였으며, 이 中 3株는 3頭에서 2株씩의 Cit<sup>+</sup>大腸菌變異株가 分離된 것 中 各 1株만이 citrate利用性を 消失하였다.

分離된 Cit<sup>+</sup>大腸菌變異株의 生化學的 檢査를 Edward 및 Ewing<sup>4)</sup>의 方法에 따라 실시한 결과 34가지의 生

學的 性狀이 大腸菌과 일치하였다.

分離된 Cit<sup>+</sup>大腸菌變異株의 CP, SM, TC, AP, CR, GM, KM, CL 및 NA에 대한 耐性檢査의 結果는 Table 3과 같이 耐性인 菌은 供試菌 123株 中 80株 (65%), 感수성인 菌은 43株(35%)였다. 藥劑別로는 TC에 79株 (64.2%), SM에 53株(43.1), CP에 4株(3.3%) 그리고 AP에 3株(2.4%)가 耐性を 나타내었으며, GM, KM, CR, CL 및 NA에 대해서는 供試한 123株 모두가 感수성이었다. 耐性樣相은 TC-SM의 二劑耐性 45株(36.6%) 그리고 CP-TC-SM에 4株(3.3), AP-TC-SM에 3株(2.4%)로 三劑耐성이 7株였으며 單劑耐性 28株 中 27株가 TC에, 1株가 SM에 耐性を 나타내었다.

이들 變異株들의 citrate利用性の 傳達性檢査는 Table 4에서와 같이 citrate利用性を 消失하지 아니한 Cit<sup>+</sup>大腸菌變異株 115株 中 78株(67.8%)가 接種온도 37°C에서 citrate利用性を 傳達하였으며, 藥劑耐性株 76株 中 52株(68.4%), 感受性株 39株 中 26株(66.7%)가 citrate利用性を 傳達하였다.

### 考 察

Cit<sup>+</sup>大腸菌變異株의 報告는 Edward와 Ewing<sup>4)</sup>이 人 由來 大腸菌 1,021株에서 0.6%, K, O, H標準抗原株 210株로부터는 0.9%의 낮은 分離率을 報告하였으며, Washington 및 Timm<sup>20)</sup>은 임상가검물로 부터 5年동안 3株의 分離를 報告한 바 있다. 動物由來의 Cit<sup>+</sup>大腸菌變異株는 Ishiguro 등<sup>21)</sup>이 처음으로 分離를 실시하여 鳩에서 36.1%, 豚에서 36.3%, 牛에서 4.1% 그리고 馬에서 7.1%로 높은 分離率을 報告하였으나, 이 후 1979年<sup>9)</sup>에 많은 숫자의 動物을 대상으로 調查報告한 바에 의하면 牛에서 0.55%, 馬에서 0.13%, feral pigeon

**Table 4.** Transfer of Citrate-utilizing Ability in *Escherichia coli*

| Donor                                     | No. of donor | Recipient | Mating temperature (°C) | Selector                      | No. of transferred isolates(%) | Character of transconjugants |     |    |
|---|--------------|-----------|-------------------------|-------------------------------|--------------------------------|------------------------------|-----|----|
|   |              |           |                         |                               |                                | Cit                          | Met | NA |
| Citrate-utilizing <i>Escherichia coli</i> | 115          | ML 1410   | 37                      | Simmons citrate agar (Met+NA) | 78(67.8)                       | +                            | -   | R  |
| R group                                   | 76           | ML1410    | 37                      | Simmons citrate agar (Met+NA) | 26(68.7)                       | +                            | -   | R  |
| S group                                   | 39           | ML1410    | 37                      | Simmons citrate agar (Met+NA) | 26(66.7)                       | +                            | -   | R  |

R group: isolates resistant to antibiotics used in the present study.

S group: isolates susceptible to antibiotics used in the present study.

R: Resistance to nalidixic acid. Met: Methionine. Cit: Citrate.

에서 0.15%로 낮은 분리율을 보고하였다. 또한 이들은 두 보고서에서 현저한 분리율의 차이는 대상동물의 수와 지역에 따른 것으로 추측하고 있다.

본 실험에서는牛에서 6%, 豚에서 0.5% 그리고 鷄, 鳩, 野生哺乳類로부터는 분리되지 않았으며, 牛에서 6%로 가장 높은 분리율을 나타내었다. 이는 牛群間의 분리율에서 Tasmania(호주)로부터 輸入된 牛가 13.6%로 높은 분리율을 나타내고 있음에 기인된 것이라 생각되며, 나머지 牛群에서는 New South Wales(호주)로부터 輸入된 牛群에서 1.5%, 우리나라에서 사육중인 乳牛에서 0.7%, 韓牛에서 1.6%의 분리율을 나타내었으며 乳牛의 경우 牧場에 따라 전혀 분리되지 않은 경우도 있어서 Ishiguro 등<sup>8,9)</sup>의 분리율과 유사하였다. 이상에서와 같이 cit<sup>+</sup>大腸菌變異株의 분리율은 지역에 따라 상당한 변화가 認定되었다.

Citrate利用性的 안정성에 관하여 Sato 등<sup>17)</sup>과 Asagi 등<sup>18)</sup>은 3株의 cit<sup>+</sup>大腸菌變異株에 대해 온도別(25°C, 37°C, 42°C) 및 繼代 頻度(1日간격 繼代)別로 citrate利用性的 안정성에 관하여 조사한 결과 citrate利用성이 42°C에서, 그리고 繼代 頻도가 증가함에 따라 消失率이 증가되었음을 보고하였다. 본 실험에서는 分離當時 2回檢査 後 실온에서 保存하던 중 1個月(6株)과 2個月(2株)에, 8株의 Cit<sup>+</sup>變異株가 Citrate利用성을 消失한 바 Cit<sup>+</sup>變異株 中 citrate利用성이 불안정한 菌株가 存在하였다는 점은 Sato 등<sup>17)</sup>의 보고서와 일치되고 있으나, Sato 등이 안정성이 있다고 추측한 온도(25°C, 37°C)에서, 그리고 1일 간격의 繼代를 실시하지 아니하였음에도 불구하고 citrate利用성이 자연 消失된 菌株가 出現한 점은 變異株間의 citrate利用性的 由來가 多様な 것으로 추측되어진다.

Cit<sup>+</sup>大腸菌變異株의 藥劑耐성에 관하여 Ishiguro 등<sup>8)</sup>은 分離한 27株 中 馬에서 分離된 1株를 제외한 나머지 26株 모두가 사용한 12藥劑 中 3~6劑에 대하여 多劑耐성이었고 CL, CR, NA, GM 및 rifampin에 대해서는 全株가 감수성이었음을 보고한 바 있다. 한편 Mercer 등,<sup>19)</sup> 루트 및 鄧,<sup>20)</sup> 鄧 및 루트<sup>21)</sup>은 動物由來 大腸菌의 藥劑耐성이 TC, SM에 대하여 높은 耐성을 나타내고 있음을 보고하였다.

본 실험(Table 3)에서는 사용한 9藥劑에 대해 80株(65%)가 耐성을 나타내었으며, 이 중 TC에 79株(64.2%), SM에 53株(43.1%)가 耐성이었으며, 多劑耐성 52株는 모두가 TC-SM耐성을 수반하여 TC, SM에 가장 높은 耐성을 나타내었으며, CL, CR, NA, GM, KM에 대해서는 全株가 감수성이었다. 이는 Ishiguro 등<sup>8,9)</sup>의 Cit<sup>+</sup>大腸菌變異株에 대한 보고서에서처럼 多様な 樣相

은 아니었으나, TC-SM에 대한 높은 耐성을 나타내고 있는 점은 Cit<sup>+</sup>大腸菌變異株 및 일반 大腸菌에 대한 보고서와 일치하였다.

citrate利用性的 傳達에 관한 遺傳的 研究에서 Sato 등<sup>17)</sup>, Ishiguro 등<sup>5,7,9,10)</sup>은 citrate利用성이 傳達性 plasmid에 기인되고, 온도감수성이어서 25°C에서 효과적으로 傳達되며, R plasmid에 의해 傳達率이 증가되었으며, 25°C 및 37°C의 접합온도에서 79.1%의 傳達율을 보고하였다. 본 실험에서는 37°C의 접합온도에서 Cit<sup>+</sup>大腸菌變異株 115株 中 67.8%(78株)의 傳達율을 나타내어 Ishiguro 및 Sato<sup>9)</sup>의 傳達율과 근소한 차이를 나타내었으며, 藥劑耐性株와 藥劑感受性株와의 citrate利用性的 傳達率은 68.4%, 66.7%로 有義性있는 차이가 인정되지 않아, R plasmid에 의해 傳達率이 증진되었다는 先人<sup>7,9,17)</sup>들의 보고서와는 相異하였다. 이는 Cit<sup>+</sup>大腸菌變異株 相互間에 citrate利用性的 遺傳的 特性에 상당한 차이가 있을 것으로 추측되어지며, 이 후 이들 變異株에 대한 더 광범한 研究를 통하여 遺傳學的 性狀을 밝힐 필요가 있다고 思料된다.

## 結 論

Cit<sup>+</sup>大腸菌變異株의 樣相을 알아보기 위하여 牛 383頭, 豚 160頭, 鷄 57首, 鳩 54首, 원숭이 9頭, 사슴 12頭, 사자 4頭, 코끼리 2頭를 대상으로 하여 Cit<sup>+</sup>大腸菌變異株를 分離하고, 이들에 대한 藥劑耐성과 citrate利用性的 안정성과 전달실험을 실시하였던 바 다음과 같은 結果를 얻었다.

Cit<sup>+</sup>大腸菌變異株의 分離率은 牛에서 6%, 豚에서 0.5%를 나타내었으며, 鷄, 鳩, 원숭이, 사슴, 사자, 코끼리로 부터는 分離되지 않았다.

Cit<sup>+</sup>大腸菌變異株의 分離率은 지역에 따라 현저한 차이가 인정되었다.

Chloramphenicol, tetracycline(TC), kanamycin, cephaloridine, aminobenzylpenicillin, nalidixic acid, streptomycin(SM), gentamicin 및 colistin에 대한 耐性樣相은 耐性株가 65%(80株), 感受性株가 35%(43株)였고, 單劑耐성 22.8%(28株), 二劑耐성 39%(48株), 三劑耐성 5.7%(7株)였으며, TC와 SM에 높은 耐성을 나타내었다.

Citrate利用性的 傳達성은 37°C에서 67.8%(78/115株)의 傳達율을 나타내었으며, 藥劑耐性株와 感受性株間에 傳達率에 차이가 인정되지 않았다.

分離된 Cit<sup>+</sup>大腸菌變異株 中 citrate利用성이 자연 消失된 것이 8株가 인정되었다.

參 考 文 獻

1. Asagi, M., Ishiguro, N. and Oka, C.: Characterization of citrate-utilizing ability of citrate positive *Escherichia coli* variants. Jap. J. Vet. Sci. (1980) 42: 407.
2. Buchanan, R.E. and Gibbons, N.E.: Bergey's manual of determinative bacteriology. 8th ed., Williams & Wilkins, Baltimore (1974) p.290.
3. Darland, G. and Davis, B.R.: Biochemical and serological characterization of hydrogen sulfide-positive variants of *Escherichia coli*. Appl. Microbiol. (1974) 27: 54.
4. Edwards, P.R. and Ewing, W.H.: Identification of *Enterobacteriaceae*. 3rd ed., Burgess Publishing Co, Minneapolis (1972) p.68.
5. Ishiguro, N., Hirose, K., Asagi, M. and Sato, G.: Incompatibility of citrate utilizing plasmids isolated from *Escherichia coli*. J. Gen. Microbiol. (1981) 123: 193.
6. Ishiguro, N., Oka, C., Asagi, M., Sato, G. and Yoshikawa, M.: Spontaneous emergence of an Hfr strain with a Cit plasmid from natural isolates of citrate-positive *Escherichia coli* of bovine origin. J. Bacteriol. (1980) 143: 1090.
7. Ishiguro, N., Oka, C., Hanzawa, Y. and Sato, G.: Plasmids in *Escherichia coli* controlling citrate-utilizing ability. Appl. Environ. Microbiol. (1979) 38: 956.
8. Ishiguro, N., Oka, C. and Sato, G.: Isolation of citrate-positive *Escherichia coli* from domestic pigeons, pigs, cattle and horses, Appl. Microbiol. (1978) 36: 217.
9. Ishiguro, N. and Sato, G.: The distribution of plasmids determining citrate-positive variants of *Escherichia coli* from humans, domestic animals, feral birds and environments. J. Hyg. (1979) 83: 331.
10. Ishiguro, N. and Sato, G.: Properties of a transmissible plasmid conferring citrate-utilizing ability in *Escherichia coli* of human origin. J. Gen. Microbiol. (1980) 116: 553.
11. Jawetz, E., Melnick, J.L. and Adelberg, E. A.: Review of medical microbiology. 14th ed., Lange Medical Publications (1980) p.231.
12. Koneman, E.W., Allen, S.D., Dowell, V.R. and Sommers, H.M.: Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. J.B. Lippincott Co. (1979) p.78.
13. Lautrop, H., Qrskov, I. and Gaarslev, K.: Hydrogen-sulfide producing variants of *Escherichia coli*. Acta Pathol. Microbiol. (1971) 79: 641.
14. MacLowry, J.D., Jaqua, M.J. and Selepak, S.T.: Detailed methodology and implementation of a semiautomated serial dilution microtechnique for antimicrobial susceptibility testing. Appl. Microbiol. (1970) 20: 46.
15. Mercer, H. D., Pocurll, D., Gaines, S., Wilson, S. and Bennet, J.V.: Characteristics of antimicrobial resistance of *Escherichia coli* from animals. Appl. Microbiol. (1971) 122: 700.
16. Qrskov, I. and Qrskov, F.: Plasmid-carried raffinose fermentation and tetracycline resistance characters. J. Gen. Microbiol. (1973) 77: 487.
17. Sato, G., Asagi, M., Oka, C., Ishiguro, N. and Terakado, N.: Transmissible citrate-utilizing ability in *Escherichia coli* isolated from pigeons, pigs and cattle. Microbiol. Immunol. (1978) 22: 357.
18. Steers, E., Flotz, E.L. and Graves, B.S.: Inocular replicating apparatus for routine testing of bacterial susceptibility to antibiotics. Antibiot. Chemother. (1959) 9: 307.
19. Washington, J.A. and Maker, M.D.: Unclassified, lactose-fermenting, urease-producing member of the family *Enterobacteriaceae* resembling *Escherichia coli*. J. Clin. Microbiol. (1975) 2: 70.
20. Washington, J.A. and Timm, J.A.: Unclassified, citrate-positive member of the family *Enterobacteriaceae* resembling *Escherichia coli*. J. Clin. Microbiol. (1976) 4: 165.
21. 鄭有珠, 卓鍊斌: 닭에서分離한 *Escherichia coli*의 중금속 및 항生物質 耐性에 關하여. 韓國獸醫公衆保健學會誌(1981) 5: 25.
22. 卓鍊斌, 鄭吉澤: 豚 由來 *Escherichia coli*의 抗生物質耐性 및 傳達性 耐性因子에 關하여. 大韓獸醫學會誌(1976)16: 159.

**Isolation of Citrate-Utilizing Variants of *Escherichia coli* from Cattle,  
Pigs, Chickens, Pigeons and Wild Animals**

Hun-Jun Lee, D.V.M., M.S.

*Department of Veterinary Medicine, College of Agriculture, Chungnam National University*

Won-Pil Choi, D.V.M., M.S., Ph.D.

*Department of Veterinary Medicine, College of Agriculture, Gyeongsang National University*

**Abstract**

This paper deals with the isolation of citrate-utilizing variants of *Escherichia coli* (Cit<sup>+</sup> *E. coli*) from the animals, their biochemical reactivity and antibiotic susceptibility, and whether the citrate utilizing ability is transmissible.

One hundred and twenty-three isolates of Cit<sup>+</sup> *E. coli* were obtained from cattle and pigs. but from other animals, no isolates were obtained.

Antibiotic susceptibility testing of Cit<sup>+</sup> *E. coli* was performed by the agar dilution method, using the following 9 antibiotics, chloramphenicol(CP), tetracycline(TC), streptomycine(SM), kanamycin (KM), colistin(CL), gentamicin(GM), cephaloridine(CR), aminobenzycillin and nalidixic acid(NA). All the variants tested were susceptible to KM, CL, GM, CR and NA. Of all the variants, 80(65%) were resistant to the drugs tested and resistance to TC and SM was most frequent.

The transmission of the ability to utilize citrate on Simmons citrate agar at 37°C was demonstrated in 78(67.8%) out of the 115 Cit<sup>+</sup> *E. coli*. There were no significant difference in the transfer rates of citrate utilizing ability between resistant and susceptible variants to above 9 drugs.

Of 123 isolates, 8 were lost their citrate utilizing ability, spontaneously.